

Generation and characterization of transgenic tomato plants over-expressing apple spermidine synthase gene

著者	Neily Mohamed Hichem
内容記述	Thesis (Ph. D. in Agricultural Science)--University of Tsukuba, (A), no. 5572, 2010.11.30 Includes bibliographical references (leaves 76-89)
発行年	2010
URL	http://hdl.handle.net/2241/114587

氏 名 (本籍)	モハメド イシエム ネイリ (チュニジア)			
学 位 の 種 類	博 士 (農 学)			
学 位 記 番 号	博 甲 第 5572 号			
学位授与年月日	平成 22 年 11 月 30 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
審 査 研 究 科	生命環境科学研究科			
学 位 論 文 題 目	Generation and Characterization of Transgenic Tomato Plants Over-expressing Apple Spermidine Synthase Gene (リンゴのスペルミジン合成酵素遺伝子を過剰発現する組換えトマトの作成及び解析)			
主 査	筑波大学教授	博士 (農学)	江 面 浩	
副 査	筑波大学教授 (連係大学院)	博士 (農学)	森 口 卓 哉	
副 査	筑波大学准教授	博士 (生命科学)	浅 水 恵理香	
副 査	筑波大学准教授	博士 (農学)	松 倉 千 昭	

論 文 の 内 容 の 要 旨

ポリアミンは生物界に普遍的に存在する生体アミンであり、近年、植物においても環境ストレス応答、植物ホルモン生合成、形態形成、代謝などへの広範な関与が報告されている。しかし、これらの知見の大半はシロイヌナズナなどのモデル植物から得られたものであり、実用作物における報告は僅少である。また、農業上重要器官である“果実”におけるポリアミンの役割についても依然として不明な点が多い。そこで、本研究では、果実代謝におけるポリアミンの生理機能解明を目的として、代表的蔬菜作物であるトマトを用い、ポリアミンによる果実代謝系制御の実態解明を行った。また、シロイヌナズナにおいてポリアミンの高蓄積が塩類ストレス耐性を付与することが報告されていることから、トマトにおける同効果の評価とその生理的背景について解明を行った。

(1) リンゴから単離されたスペルミジン合成酵素遺伝子 *SPDS1* をトマトへ導入し、ポリアミン過剰蓄積形質転換体を作出した。これらの形質転換体果実についてメタボローム解析を行い、果実発達過程における一次代謝産物およびカロテノイド類の蓄積を解析した。その結果、着色期以降、代謝動態に顕著な変化が見られ、形質転換体果実においては GABA、グルタミン酸等のアミノ酸、グルコース、フルクトース、スクロース等の可溶性糖類、カロテノイドなどの有用物質が高蓄積していることを確認した。また、カロテノイド代謝関連酵素遺伝子群について発現解析を行ったところ、転写レベルで生合成酵素遺伝子発現が上昇する一方、分解酵素遺伝子の発現は抑制されていることが明らかになった。

(2) 上記ポリアミン過剰蓄積形質転換トマト系統について、塩ストレス耐性に関する形質評価とその生理的要因について解析を行った。その結果、形質転換系統では、塩類ストレス (150mM NaCl) 処理によって引き起こされるバイオマス (生鮮・乾物重、果実収量) の減少が野生型と比較して軽減されており、塩類ストレス耐性が増進されていることが確認された。また、塩類ストレスによって生起される緑葉組織における葉緑素の減少や電解質漏出が形質転換系統では軽減されていること、アスコルビン酸ペルオキシダーゼ遺伝子の発現や同酵素活性が塩類ストレスにより有意に上昇していることが明らかとなった。以上の結果より、ポ

リアミンは、塩ストレス条件下において葉における葉緑体の分解と光合成活性の低下を抑制することにより、バイオマスの減少を軽減していること、その際、高抗酸化活性が葉緑体の保護に寄与していることが示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

申請論文は主要園芸作物であるトマトを用い、果実における代謝系制御と塩ストレス耐性獲得におけるポリアミンの生理機能を解明したものである。植物における既知の関連研究は大半がシロイヌナズナなどのモデル実験植物でなされたものであり、実用作物を用いた報告は僅少である。果実を対象とした同様の研究はこれまで数例報告されているものの、絶対的定量法に基づくメタボローム解析は本研究が最初であり、主成分分析により代謝動態を総合的に解明した事例は園芸作物では報告されていない。加えて、ポリアミンによるカロテノイドの蓄積促進が転写レベルで制御されていることを初めて明らかにしたことも特筆に値する。これらの結果は従来の研究とは一線を画すものであり、果実発達におけるポリアミンの生理機能を解明する上で重要且つ新しい知見であると評価できる。また、後段で取り組んだ研究はトマトでは初めての実施例である。得られた結果は、ポリアミン過剰蓄積による塩ストレス耐性獲得の生理機構解明に資するだけでなく、実用作物において遺伝子工学的手法により商業的付加価値とストレス耐性の増進が可能であることを示すものとして高く評価できる。これらの知見は学術上かつ農業上非常に有益であり、本研究は博士論文として十分に値するものと認められる。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。